

FRACCIONAMIENTO DEL CALCIO EN LOS DISTINTOS ÓRGANOS DE PLANTAS JÓVENES DE CÍTRICOS CULTIVADAS EN DISTINTAS CONDICIONES DE APOORTE DE CALCIO

¹ Equipo de Nutrición y Fertilización de Cítricos y Frutales. Departamento de Citricultura y Producción Vegetal (IVIA).

² CACTI Vigo. Universidad de Vigo.

1. INTRODUCCIÓN

El calcio es un catión relativamente grande con un radio iónico hidratado de 0,412 nm y una energía de hidratación de 1577 J mol⁻¹. En el apoplasto, parte del calcio está fuertemente enlazado a estructuras, y otra parte es intercambiable en las paredes celulares y en la superficie exterior de la membrana plasmática. Una alta proporción del calcio puede estar secuestrada en las vacuolas mientras que es extremadamente baja su concentración citosólica. Lo mismo sucede para la movilidad floemática del calcio en el simplasto de célula a célula (Marschner 1974).

El calcio, aunque forma parte de numerosos compuestos orgánicos, mayoritariamente se encuentra en la planta en forma mineral u organomineral, tanto en forma soluble como insoluble (oxalato, pectato, fosfato y carbonato de calcio). Según Baeyens (1970), la planta se ve obligada a absorber y transportar Ca²⁺, pero luego encuentra dificultades para eliminarlo, por lo que lo precipita en las membranas celulares en forma de pectatos y en las vacuolas en forma de oxalato cálcico.

La distribución del calcio entre

sus distintas fracciones varía durante el desarrollo del fruto, e incluso durante su almacenamiento (Perring & Plocharski 1975; Himelrick & Walker 1982), por lo que las concentraciones de calcio total pueden no estar bien relacionadas con la calidad de los frutos, siendo preciso recurrir a su distribución bajo las diferentes formas como alternativa (Faust *et al.* 1968; Marschner 1974; Bradfield 1977; Poovaiah 1979; Ferguson *et al.* 1980; Himelrick 1981). La relación entre calcio libre y calcio ligado es muy importante en los procesos de maduración del fruto, el incremento en la producción de etileno junto a un aumento en la permeabilidad de la membrana como consecuencia de un descenso del calcio fisiológicamente activo, es un paso esencial en el proceso de maduración que, en consecuencia, requiere el movimiento del calcio de la lámina media. En tejidos de almacenamiento de frutos de manzano, la fracción de calcio enlazado a la pared celular puede constituir hasta el 90% del total. La mayoría del calcio hidrosoluble en el tejido vegetal está localizado en las vacuolas, acompañado de aniones orgánicos (e.g., malato) o de aniones inorgánicos (e.g., nitrato, cloruro). No es clara la forma de ligamiento del calcio en el retículo endoplasmático (ER). En contraste a la pared celular, en el ER y la vacuola, es extremadamente baja la concentración citosólica de calcio y se mantiene en el rango de 0,1-0,2 μm de Ca²⁺ libre. Son esenciales tales concentraciones bajas para evitar la competencia con Mg²⁺ por centros de ligamiento y

es un prerequisite para la función del calcio como mensajero secundario. Dependiendo de la especie y familia vegetal, el calcio vacuolar puede también enlazarse a polianiones tipo pectina, o, en el apoplasto, precipitarse como carbonato de calcio (Marschner 1974). Sin embargo, hay pocos estudios que cuantifiquen el porcentaje en el que se encuentra el calcio en las distintas formas.

Para conocer la distribución del calcio absorbido es esencial la utilización de la técnica de dilución isotópica, ya que la elevada concentración de Ca en los tejidos vegetales hace necesario distinguir el ya presente al inicio del ensayo, del absorbido durante el desarrollo del mismo.

En esta segunda parte del convenio realizado con la empresa YARA IBERIAN S.A, se ha abordado la cuantificación de las diferentes fracciones del calcio en los distintos órganos de la planta, tanto en las plantas del ensayo de absorción como de translocación, y en las fracciones de calcio marcado como no marcado. Además, se ha analizado en cada arranque si influye el "No aporte" de calcio en la distribución del calcio en la planta.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Material vegetal y condiciones de cultivo

En marzo de 2012 se transplantaron 15 plantas de salustiana de 2 años de injerto, cultivadas en el invernadero en turba y perlita, a

macetas con 4 Kg de un suelo franco y se mantuvieron en el invernadero durante un ciclo vegetativo completo. Como sustrato se utilizó un suelo con las características siguientes: textura franca (17,1% de arcilla, limo 37,3% y un 45,6% de arena total), pH de 8,5 (ligeramente alcalino), carbonatos totales 23,1% (calcáreo), caliza activa 5,0% (poco clorosante). Con materia orgánica baja (0,69%), fósforo Olsen ligeramente bajo (19,2%), potasio bajo (0,30 meq 100 g suelo⁻¹), magnesio y calcio normales (1,7 y 8,5 meq 100 g suelo⁻¹, respectivamente) y conductividad eléctrica de 290 µS cm⁻¹.

2.2 Desarrollo experimental del primer ciclo vegetativo (Marzo 2012-Enero 2013)

En este período, doce plantas se abonaron con fertilizantes marcados con los isótopos estables ⁴⁴Ca y ¹⁵N, 6 se utilizaron para el ensayo de absorción y las 6 restantes para el de translocación. En este artículo sólo se presentarán los datos relativos a la absorción para simplificar resultados.

2.2.1 Ensayo de absorción

En este ensayo se realizaron dos tratamientos durante un ciclo vegetativo completo.

En el 1º se evaluó la absorción de Ca y N por plantas jóvenes de cítricos por medio de los isótopos ⁴⁴Ca y ¹⁵N aportados durante un período vegetativo (marzo 2012 a enero 2013). Para ello, tres plantones se abonaron de marzo a octubre con las dosis de nutrientes que se indican en la Tabla 1, en función del porte de las plantas y de la fertilidad del suelo. El N se aportó con las 5 fuentes indicadas al pie de la Tabla 1 (tratamiento 1). Para aportar el Ca se utilizaron 2 fuentes: como ⁴⁴Ca en forma ⁴⁴Ca(NO₃)₂ (Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover, MA, USA) y calcinit (nitrato de calcio de

Tabla 1. Dosis anual y distribución mensual de los fertilizantes en la solución nutritiva estándar.

Dosis árbol ⁻¹	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sept	Oct	TOTAL
% dist. Dosis mensual	5	10	15	20	20	15	10	5	100
mg N	100	200	300	400	400	300	200	100	2000
mg ¹⁵ N ^Z	11,6	23,2	34,8	46,4	46,4	34,8	23,2	11,6	231,4
mg P ₂ O ₅	35	70	105	140	140	105	70	35	700
mL. ácido fosfórico ^Y	0,03	0,06	0,09	0,13	0,13	0,09	0,06	0,03	0,64
mg K ₂ O	50	100	150	200	200	150	100	50	1000
g Nitrato potásico ^X	108,7	217,4	361,1	434,8	434,8	361,1	217,4	108,7	2173,9
mg CaO	105,5	211,0	316,5	422,0	422,0	316,5	211,0	105,5	2110,0
mg ⁴⁴ Ca ^W	7,8	15,6	23,4	31,2	31,2	23,4	15,6	7,8	156,0
mg MgO	75	150	225	300	300	225	150	75	1500
mg Sulfato Magnesio ^V	470	940	1410	1880	1880	1410	940	470	9400
mg Fe	1,5	3,0	4,5	6,0	6,0	4,5	3,0	1,5	30,0
mg quelato ^U	33	66	99	132	132	99	66	33	660

^Z Tratamiento 1: Nitrógeno aportado como nitrato cálcico (marcado y normal), nitrato amónico (marcado y normal) y nitrato potásico.

Tratamiento 2: Nitrógeno aportado como nitrato amónico(normal y amonico) y nitrato potásico marcado (marcado y normal).

^Y 1000 ml ácido fosfórico = 1.113 g P₂O₅.

^X Nitrato potásico (N = 13,5% y K₂O = 46,0%).

^W Tratamiento 1: Calcio aportado como nitrato cálcico marcado y normal (calcinit). Tratamiento 2: Sin calcio

^V Sulfato de magnesio (MgO = 16%).

^U Quelato múltiple (4,5% Fe, 0,5% Zn y 1,0% Mn).

Yara), de modo que con ambos fertilizantes de calcio se obtuvo un enriquecimiento del 10,35% en ⁴⁴Ca y con los 5 fertilizantes nitrogenados se alcanzó un enriquecimiento del 11,57% en ¹⁵N. El P como ácido fosfórico, el K como nitrato potásico marcado, el Mg como sulfato de magnesio y el Fe, Z, y Mn se suministraron en forma de quelato.

En el 2º tratamiento solamente se cuantificó la absorción del fertilizante del N aplicado como ¹⁵N y la contribución al contenido en N de los órganos jóvenes del N procedente del nitrato potásico aplicado durante un ciclo vegetativo en ausencia del suministro de Ca. Para aportar el N se aplicaron los 3 fertilizantes indicados al pie de la Tabla 1 (tratamiento 2). La dosis de K se aplicó como nitrato potásico marcado con ¹⁵N, y el N que faltó para completar la dosis de N se suministró como nitrato amónico normal y marcado con ¹⁵N en ambas fracciones (nitrítica y amoniacal), ya que se eliminaron las dos fuentes de N procedentes de los 2 tipos de nitrato cálcico (tratamiento 1). De modo que el N procedente de los 3 fertilizantes aplicados también alcanzó un enriquecimiento del 11,57% en ¹⁵N. El resto de macros (P y Mg)

y de micros (Fe, Zn y Mn) se suministraron con los mismos fertilizantes descritos en el tratamiento 1º.

Recogida de órganos caídos. Al fin de cuantificar las cantidades de ⁴⁴C y ¹⁵N absorbidas por los órganos que no permanecen en el árbol en el momento de la extracción, se recogieron semanalmente los órganos desprendidos (pétalos, ovarios, frutos en desarrollo y hojas viejas), en la época de mayor caída de éstos (principio de mayo hasta el final de julio).

Extracción de las plantas. Durante el letargo (enero 2013), se extrajeron las plantas del suelo y se separaron los órganos jóvenes: fruto maduro, botón floral, flor, hojas y ramas de las diferentes brotaciones (en nuestro caso, las plantas realizaron las tres brotaciones anuales, primavera, verano y otoño), los viejos (hojas, ramas viejas y tronco) y el sistema radical (raíces viejas y fibrosas). Se pesaron y tomaron una muestra de cada una de estas fracciones. Éstas se lavaron con agua desionizada, se liofilizaron hasta peso seco constante y se registró el peso seco.

3. ANALÍTICAS REALIZADAS

Para la determinación de la distribución de las diferentes fracciones del calcio en la planta, es necesario conocer la biomasa (peso seco) de cada fracción, la concentración de calcio de esos órganos y la concentración de calcio en cada fracción separada.

3.1 Análisis de la concentración de calcio

Para la determinación de la concentración de Ca, el material vegetal liofilizado se sometió a una digestión nítrico-perclórica para la liberación de los elementos minerales. Posteriormente, se realizó una dilución de 0,5 mL de la digestión en 10 mL de agua milli-Q. Las concentraciones de Ca total se midieron con un espectrómetro de emisión atómica con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES iCAP 6000, Thermo Scientific).

La concentración de ^{44}Ca se determinó en un espectrómetro de masas con colector múltiple y fuente de plasma de acoplamiento inductivo (MC-ICP MS, Thermo Finnigan Neptune, Universidad de Vigo). A los resultados del ^{44}Ca de las diferentes partes de la planta se les restó la abundancia natural de este isótopo (2.086 átomos % de ^{44}Ca). Los resultados expuestos en las tablas y texto se refieren al exceso o enriquecimiento de este isótopo

3.2 Separación y análisis de las fracciones de calcio

En las muestras vegetales de los ensayos del tratamiento 1 (con ^{15}N y ^{44}Ca) se separaron las distintas fracciones de calcio (según protocolo descrito por Ohat *et al.* 1970). Una vez separadas, se enviaron a la Universidad de Vigo para el análisis de la concentración de ^{44}Ca .

La determinación de las distintas

formas del calcio consiste en un proceso de extracción secuencial que separa cuatro fracciones de calcio de insolubilidad creciente: calcio soluble, calcio ligado (formando pectatos y carbonatos principalmente), calcio insoluble inorgánico (formando fosfatos fundamentalmente) y el calcio insoluble orgánico (en forma de oxalato) (Minamide *et al.* 1986; Carpena *et al.* 1973; Valenzuela *et al.* 1994).

3.2.1 Instrumentos y reactivos

Para el tratamiento de las muestras utilizamos un liofilizador (TELS-TAR, LyoAlfa 6, Terrassa, España), una centrífuga Eppendorf 5810R (Eppendorf Iberica, Madrid, España), un homogeneizador (vortex) y un orbital (Forma Orbital, Shaker, Thermo). Los disolventes utilizados, agua de calidad LC-MS y etanol absoluto, fueron adquiridos en Sharlab L. L (España). Los reactivos (cloruro sódico, ácido acético y ácido clorhídrico) fueron adquiridos en Panreac Química (Barcelona, España).

3.2.2 Extracción de las distintas formas de Calcio

La metodología empleada para obtener las distintas fracciones de calcio se basó en el protocolo descrito por Ohat *et al.* (1970) con ligeras variaciones. Brevemente, para cada tratamiento se pesaron entre 0,5 - 1,0 g de muestra liofilizada y pulverizada, se añadieron 10 mL de etanol absoluto, se homogeneizaron durante 5 minutos, y se agitaron en un orbital durante 18 horas, a 30 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, obteniendo un sobrenadante-I y un precipitado-I. La extracción se repitió con 5 mL de etanol absoluto (añadidos al precipitado-I), en las mismas condiciones, reuniendo posteriormente los dos sobrenadantes que se diluyeron con agua hasta 20 mL, obteniendo así la Fracción I donde se determinaron posteriormente Ca

(NO_3)₂ y CaCl_2 . Siguiendo un procedimiento similar, se obtuvieron las distintas fracciones de calcio II-IV. Así, el precipitado-I resultante se lavó, y se añadieron 10 mL de una solución acuosa 1 mol/L de NaCl. Se homogeneizó durante 5 minutos, y se agitó en un orbital durante 18 horas, a 30 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, obteniendo un sobrenadante-II y un precipitado-II. La extracción se repitió con 5 mL de solución acuosa 1 mol/L de NaCl (añadidos al precipitado-II), en las mismas condiciones, reuniendo los dos sobrenadantes que fueron diluidos con agua hasta 20 mL, obteniendo así la Fracción II donde se determinaron posteriormente los pectatos de Ca. El precipitado-II resultante se lavó, se añadieron 10 mL de una solución acuosa 2% ácido acético, se homogeneizó durante 5 minutos, y se agitó en un orbital durante 18 horas, a 30 °C. Después, las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, obteniendo un sobrenadante-III y un precipitado-III. La extracción se repitió con 5 mL de solución acuosa 2% ácido acético (añadidos al precipitado-II), en las mismas condiciones, reuniendo los dos sobrenadantes que fueron diluidos con agua hasta 20 mL, obteniendo así la Fracción III donde se determinaron, con posterioridad, los fosfatos y carbonatos de Ca. Por último, el precipitado-III resultante se lavó, y se añadieron 10 mL de una solución acuosa 0,6% ácido clorhídrico, se homogeneizó durante 5 minutos, y se agitó en un orbital durante 18 horas, a 30 °C. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, obteniendo un sobrenadante-IV y un precipitado-IV. La extracción se repitió con 5 mL de solución acuosa 0,6% ácido clorhídrico (añadidos al precipitado-III), en las mismas condiciones, reuniendo los dos sobrenadantes que se diluyeron con agua hasta 20 mL, obteniendo así la Fracción IV donde se determinaron, finalmente, los oxalatos de Ca.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La significación de los tratamientos realizados (con y sin calcio) en cada ensayo se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación entre medias se realizó mediante el test LSD-Fisher al 95% de nivel de confianza. Ambos se realizaron mediante el programa estadístico Statgraphics Plus version 5.1 (Statistical Graphics, Englewood Cliffs, NJ).

5. RESULTADOS OBTENIDOS

A continuación se describen los resultados obtenidos de las diferentes fracciones de calcio en los órganos separados en el ensayo de absorción.

Las plantas extraídas al inicio del ensayo presentaron un fraccionamiento de calcio similar al obtenido en los dos arranques posteriores, con valores muy bajos de calcio en la fracción soluble y predominante la fracción en forma de pectato.

Como ya hemos comentado, el calcio es absorbido por la planta en forma de ión Ca^{+2} , por lo tanto, la entrada de Ca^{+2} a la célula se realiza exclusivamente por medio de canales en la membrana, y el movimiento del calcio en la planta se produce solamente debido a la corriente xilemática desde las raíces hacia los órganos como hojas y frutos (Thuleau *et al.* 1998; White 2000; 2001; White & Davenport 2002), por tanto puede que la distribución del calcio dependa de la cantidad de Ca^{+2} absorbida por la raíz (Díaz *et al.* 2007), pudiendo variar durante el desarrollo del fruto. Por ello, se ha determinado su distribución de las diferentes formas posibles, siguiendo la metodología descrita en el apartado de material y métodos, para separar cuatro fracciones de calcio de insolubilidad creciente: calcio soluble, calcio ligado (pectatos y carbonatos principalmente), calcio insolu-

Tabla 2. Fraccionamiento del calcio total (porcentaje) en diferentes formas de mandarinos Salustianos extraídos al inicio del ensayo².

Órgano	Fracción I NO_3/Cl	Fracción II Pectato	Fracción III PO_4/CO_3	Fracción IV Oxalato
Hojas viejas	0,29	66,36	15,61	13,94
Ramas viejas	0,34	42,07	14,17	35,05
Tronco	0,69	41,94	14,45	40,04
Raíz gruesa	0,58	40,07	19,28	35,17

²Cada valor es la media de 3 plantas.

Tabla 3. Fraccionamiento del Calcio total marcado (porcentaje) entre los diferentes órganos en árboles de mandarina Salustiano en extraídos en Enero de 2013 (en letargo) en los tratamientos con (Trat 1) y sin (Trat 2) aporte de Ca^{2+} .

Órgano	Forma Calcio	Fracción I NO_3/Cl	Fracción II Pectato	Fracción III PO_4/CO_3	Fracción IV Oxalato
Órganos caídos		1,03 ^y	43,81	28,15	23,97
Frutos		1,99	48,63	20,37	25,73
Hojas de otoño		1,05	55,89	21,41	18,27
Hojas de verano		1,88	55,78	23,80	14,94
Hojas de primavera		0,90	58,24	19,54	18,01
Hojas viejas		0,81	58,69	18,76	18,55
Ramas de otoño		0,74	59,94	22,27	13,53
Ramas de verano		1,56	62,04	21,18	11,84
Ramas de primavera		1,00	62,61	19,42	13,93
Ramas viejas		1,95	62,79	22,30	9,71
Tronco		1,48	61,97	22,21	11,25
Raíz gruesa		0,88	57,46	25,80	13,16
Raíz fibrosa		0,50	40,53	32,40	23,28

²Cada valor es la media de 3 plantas.

^yPorcentaje de calcio en cada fracción con respecto al contenido de ^{45}Ca total

ble inorgánico (fosfatos fundamentalmente) y por último el calcio insoluble orgánico u oxalato (puesto que una buena parte de este elemento se encuentra en la planta precipitado como oxalato cálcico) mediante un proceso de extracción secuencial.

En frutos, hojas, ramas y raíces podemos destacar los siguientes resultados:

Los valores de calcio total correspondientes al primer muestreo, es decir, al inicio del ensayo (Tabla 2), muestran que la fracción que acumuló mayor cantidad de calcio total en todos los casos fue la Fracción II (pectatos) con valores comprendidos entre 40 y 66%, seguida de la Fracción IV (oxalatos) y/o la Fracción III. La única excepción es en las raíces fibrosas, que presentaron un mayor valor en la Fracción III (34,72%) respecto a la Fracción II (32,94%). La Fracción I (la más soluble) presentó porcentajes mucho menores, entre 0,29 - 0,69%.

En la mayoría de los órganos

existe una mayor proporción de calcio total en la fracción soluble (Fracción I), aunque en muchos casos no significativa, en los tratamientos con calcio (Trat 1) respecto a los que no se les aplicó calcio (Trat 2), con valores mucho menores a los obtenidos en las demás fracciones extraídas.

En frutos, durante el período de latencia, en la Fracción II (pectatos) se acumuló la mayor proporción de calcio total (marcado/no marcado) con valores de 41.95/56.05% (48.63% en la fracción marcada) seguida, en general, por la Fracción IV (oxalatos) y la Fracción III (fosfato/carbonato). Cabe destacar que el porcentaje de Ca en la fracción soluble (Fracción I) en los frutos maduros es superior a la que se obtiene en la fase de crecimiento. Posiblemente debido a que los frutos en desarrollo tienen un mayor consumo de Ca soluble que los que han finalizado su desarrollo.

Las hojas y ramas presentaron en general una mayor acumulación de calcio total marcado y sin marcar, en

Tabla 4. Fraccionamiento del Calcio total (porcentaje) entre los diferentes órganos de mandarina Salustiano en árboles extraídos en Enero de 2013 (en letargo) en los tratamientos con (Trat 1) y sin (Trat 2) aporte de Ca².

Órgano	Fracción I NO ₃ /Cl			Fracción II Pectato			Fracción III PO ₄ /CO ₃			Fracción IV Oxalato		
	Trat 1 (¹⁵ N+ ⁴⁴ Ca)	Trat 2 (¹⁵ N)	AE ^Y	Trat 1 (¹⁵ N+ ⁴⁴ Ca)	Trat 2 (¹⁵ N)	AE ^Y	Trat 1 (¹⁵ N+ ⁴⁴ Ca)	Trat 2 (¹⁵ N)	AE ^Y	Trat 1 (¹⁵ N+ ⁴⁴ Ca)	Trat 2 (¹⁵ N)	AE ^Y
Órganos caídos	1,46 ^Y	0,31	NS	39,47	54,99	*	28,60	23,32	NS	23,12	15,72	NS
Frutos	4,20	2,23	NS	41,95	56,05	*	18,38	21,3	NS	27,55	14,75	*
Hojas de otoño	2,72	0,57	NS	48,51	54,30	*	20,01	15,51	NS	21,55	23,96	NS
Hojas de verano	2,92	0,28	*	52,19	63,40	*	19,75	13,02	*	16,95	17,63	NS
Hojas de primavera	1,24	0,34	NS	55,53	63,47	*	18,22	13,69	*	16,76	16,83	NS
Hojas viejas	0,99	0,49	NS	59,29	62,71	NS	16,63	17,64	NS	14,99	13,50	NS
Ramas de otoño	2,05	0,57	*	50,78	53,28	NS	18,67	13,12	NS	21,47	27,36	NS
Ramas de verano	2,39	0,73	*	52,67	49,22	NS	17,79	16,55	NS	19,25	27,85	NS
Ramas de primavera	1,55	0,39	NS	53,54	48,27	NS	16,36	15,01	NS	22,20	30,67	*
Ramas viejas	2,48	0,59	NS	50,36	46,91	NS	17,84	14,30	NS	22,35	32,53	*
Tronco	2,66	0,42	*	45,58	39,21	NS	18,34	15,83	NS	25,45	38,88	*
Raíz gruesa	2,07	0,47	NS	42,28	41,79	NS	20,90	20,77	NS	28,04	31,32	NS
Raíz fibrosa	0,63	0,61	NS	29,87	36,88	*	40,38	41,3	NS	22,36	15,37	NS

²Cada valor es la media de 3 plantas.

^YAE (Análisis estadístico). Efectos significativos debidos al aporte de Ca para $P \leq 0.05$ (*) y no significativos para $P > 0.05$ (NS).

forma de pectatos (Fracción II). En el Ca total y marcado (⁴⁴Ca) en forma soluble hay gran diferencia entre los tejidos de las hojas y los de las ramas y tronco del primer periodo, ya que los porcentajes son menores en las hojas mas viejas (hojas viejas y de primavera) y aumentan considerablemente en las de verano y otoño. Esto indica que el Ca soluble del tejido laminar se transloca hacia los centros de consumo (hojas nuevas brotaciones y los frutos). En cambio, en las ramas viejas se observan valores muy superiores a los de las ramas de las nuevas brotaciones, reflejando que el Ca soluble se acumula en los haces conductores básicos (ramas viejas y tronco).

El aporte de calcio dio lugar a porcentajes significativamente inferiores en las hojas y la raíz fibrosa en forma de pectatos y superiores en la fracción III, en forma de fosfatos y carbonatos, fracción más insoluble. Parece indicar, que el menor aporte de calcio en la planta da lugar a una mayor acumulación en una forma menos insoluble (pectatos) que podrá translocarse con mayor facilidad en momentos de desarrollo vegetativo. También las raíces gruesas presentaron mayor acumulación de calcio total en forma de pectatos (Fracción II) con porcentajes entre 42,28/41,79% y con valores algo

más elevados en el porcentaje en esta forma del calcio marcado. Sin embargo, el Ca insoluble inorgánico (fosfatos y carbonatos) es especialmente abundante en las raíces fibrosas, con porcentajes de 40,38/41,30% en el periodo de latencia, sin que aparezcan diferencias significativas debidas al aporte de calcio en el abono. Esto indica que durante el período activo de crecimiento de éstas, la mitad del Ca total se encuentra en forma insoluble, formando parte de los nuevos tejidos leñosos de estas raíces.

El Ca insoluble en forma de oxalato en las raíces gruesas supone algo más del 25% del contenido total en Ca, en promedio de ambos periodos; mientras que el del ⁴⁴Ca fue algo menos de la mitad de ese valor. Esto refleja que, el ⁴⁴Ca que se absorbe del fertilizante hasta el periodo de latencia y que se removiliza después hacia los nuevos tejidos en desarrollo tiene baja tendencia a pasar a forma oxalato en las raíces gruesas. En cambio, en las fibrosas, los valores fueron muy similares (calcio marcado y no marcado), con un promedio de 21,8% para ambos periodos tanto para el Ca total como el ⁴⁴Ca.

6. CONCLUSIONES

De todo lo expuesto cabe desta-

car que, en casi todos los casos, la fracción más abundante es la correspondiente a los pectatos de calcio (Fracción II), con casi total independencia del órgano considerado y la época de muestreo. En las hojas, el aporte de calcio dio lugar a una mayor proporción de calcio encontrado en esta forma. Diferentes autores indican la existencia de niveles altos de calcio unido a pectatos en plantas que crecen en condiciones de abundante aporte cálcico, estableciéndose que en hojas bien dotadas de calcio durante su periodo de crecimiento, gran parte de los pectatos de la lamela interna de las células se encuentran como pectato cálcico, lo que hace que el tejido sea muy resistente a la degradación del enzima poligalacturonasa, enzima responsable de disolver los pectatos de la lámina y los tejidos de sostén (Mostafa & Ulrich 1976; Rigney & Wills (1981). Parece que un menor aporte de calcio da lugar a una mayor proporción en esta forma. Por otra parte, y también en casi todos los casos, las siguientes fracciones más abundantes fueron las correspondientes a los fosfatos y carbonatos de calcio (Fracción III), seguidas de la fracción de oxalato de calcio (Fracción IV). Las raíces fibrosas, sin embargo, es el único órgano que presenta una mayor proporción de Ca en forma inorgánica, fosfato y carbonatos.

7. REFERENCIAS

BAEYENS, J. 1970. Nutrición de las plantas de cultivo. Ed. Lemos. Madrid.

BRADFIELD, E.G. 1977. Extraction of calcium fractions from plant material. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 8: 563-572.

BRADFIELD, E.G. & GUTTRIDGE, C.G. 1984. Effects of night-time humidity and nutrient solution concentration on the calcium of tomato fruit. *Scientia Horticulturae*, 22: 207-217.

CARPENA, O., LEÓN, A., LLORENTE, S. & DE LA PEÑA, C. 1973. Estudio de fracciones de calcio en limonero Verna. En: Proceedings of the I International Citrus Congress, Murcia, Spain. Vol. I, pp. 171-176.

DÍAZ, A., CAYÓN, G., MIRA, J. J. 2007. Agronomía colombiana 25:280-287.

FERGUSON, I. B., TURNER, N. A. & BOLLARD, E. G. 1980. Problems in fractionating calcium in plant tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 31, 7-14.

HIMELRICK, D.G. & WALKER, C.E. 1982. Seasonal trends of calcium, magnesium, and potassium fractions in apple leaf and fruit tissues. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 107: 1078-1080.

MARSCHNER HORST. 1974. Calcium nutrition of higher plants. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 22, 275-82.

MINAMIDE, T., GOTO, M. & IWATA, T. 1986. Forms of calcium compounds and their changes after harvest in fruits and vegetables. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 54 (4) 507-513.

MOSTAFA, M.A.E. & ULRICH, A. 1976. Absorption, distribution and form of Ca in relation to Ca deficiency (tip burn) of sugarbeets. *Crop Science*, 16: 27-30.

OHAT Y., YAMAMOTO K., DEGUCHI M. 1970. Chemical fractionation of calcium in the fresh leaf blade and influence of deficiency or over supply of calcium and age of leaf on the content of each calcium fraction[J]. *Journal of the Science of soil and Manure*, 41:19-26.

PERRING, M.A. & PLOCHARSKI, W. 1975. Proportions of calcium, magnesium, phosphorous and potassium extractable by water or ethanol from apple fruit tissue in relation to length of storage, orchard factors and storage disorders. *J. Sci. Food Agric.* 26: 1807-1817.

POOVAIAH, B.W. 1979. Role of calcium in ripening and senescence. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 10, 83-88.

RIGNEY, C.J. & WILLS, R.B.H. 1981. Calcium movement, a regulating factor in the initiation of tomato fruit ripening. *Hort Science*, 16: 550-551.

THULEAU, P., SCHROEDER, J.I., RANJEVA, R. 1998. Recent advances in the regulation of plant calcium channels: evidence for regulation by G-proteins, the cytoskeleton and second messenger. *Current Opinion Plant Biol.* 1:424-427.

VALENZUELA, J. L., SÁNCHEZ, A. & ROMERO, L. 1994. Influencia de la fertilización N, P y K sobre las fracciones de calcio en plantas de melón. I Simposio Internacional sobre la nutrición mineral de las plantas. Badajoz. 390-394.

WHITE, P.J. 2000. Calcium channels in higher plants. *Biochemical et Biophysical Acta* 1465:171-189.

WHITE, P.J. 2001. The pathways of calcium movement to the xylem. *J. Expl. Bot.* 52:891-899.

WHITE, P.J & DAVENPORT, R.J. 2002. The voltage-independent cation channel in the plasma membrane of wheat roots in permeable to divalent cations and be involved in cytosolic Ca^{+2} homeostasis. *Plant Physiol.* 130:1386-1395.

La apuesta Yara Iberian por una agricultura sostenible, Premio El Suplemento 2015

Creada en Noruega en 1905, Yara se ha convertido en un referente mundial en la producción de nutrición vegetal, especializada en la química del nitrógeno y los productos industriales. **Yara es líder en soluciones para una agricultura sostenible y el medio ambiente.**

Es por ello que su filial española Yara Iberian ha sido galardonada con el **Premio El Suplemento 2015 en la categoría de Sostenibilidad**. El premio se entregará en una gala el próximo 8 de mayo en el Hotel Westin Palace de Madrid y reunirá a destacadas personalidades del mundo empresarial, económico, social y cultural del país.

Las soluciones de Yara **reducen el nivel de emisiones, mejoran la calidad del aire y respaldan unas prácticas seguras y eficientes.**

De cara al futuro, nuestra sociedad se enfrenta a tres retos fundamentales: la seguridad alimentaria, la limitación de recursos y la contaminación medioambiental. En este sentido, la utilización de fertilizantes naturales no sólo asegura volúmenes de producción, sino que también aporta a cada cultivo los nutrientes

que necesita; lo cual es de vital importancia cuando la población mundial ha sobrepasado ya los 7.000 millones de personas.

Ante la creciente contaminación medioambiental, **Yara ofrece soluciones que palían los impactos medioambientales** de la industria y el transporte. La empresa noruega dispone de una tecnología capaz de reducir las emisiones de gases invernaderos.

Yara tiene una presencia internacional que abarca más de 150. En el último ejercicio sus ingresos alcanzaron los 274 millones de euros, siendo la distribución de fertilizantes minerales su actividad principal, alcanzando las tres cuartas partes de su volumen de negocio.

IV Premios El Suplemento

Los Premios El Suplemento nacieron hace ahora cuatro años bajo la filosofía de **trasladar a los ciudadanos el espíritu y esfuerzo emprendedor de los proyectos empresariales** que surgen en España además de acercarles el buen hacer de las empresas y profesionales de los sectores más variados.

Los galardones reconocen la labor de los mismos en diferentes ámbitos de la vida profesional, empresarial, científica, industrial y comercial del país. Los premiados han sido elegidos bajo criterios como la innovación, el crecimiento empresarial, la creación de empleo, la internacionalización o la repercusión mediática.

La empresa **Suplementos y Monográficos S.L.**, organizadora de estos galardones, produce y edita especiales insertados en los principales medios de comunicación nacionales como La Razón, El Mundo, Expansión o La Voz de Galicia.

Su objetivo es facilitar la **inserción y divulgación de las pymes españolas y de los profesionales liberales en los medios de comunicación nacionales**. Una tarea no siempre sencilla que los fundadores del Suplemento, Antonio Queijeiro y Pablo Suárez, han querido conseguir con este proyecto, que ha tenido una gran acogida en sus anteriores ediciones entre el empresariado español con ideas y talento que divulgar.